

ラット大網における5'-nucleotidase(5'-Nase)活性の分布

著者	周 平
発行年	2001-03-26
URL	http://hdl.handle.net/10422/2723

氏 名・(本籍)	周 平 (中国)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	博士第365号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成13年3月26日
学位論文題目	ラット大網における 5'-nucleotidase(5'-Nase) 活性の分布
審査委員	主査 教授 木 村 宏 副査 教授 服 部 隆 則 副査 教授 新 井 良 八

論文内容の要旨

【目 的】

大網は腹膜炎時にその炎症部位に集束して、炎症の広がりを抑制する。大網は腹腔内腫瘍細胞が転移されやすい部位でもある。また大網は内臓脂肪の貯蔵器官として機能する。アデノシンは多くの生理活性を持つヌクレオシドであり、免疫系細胞の機能調節や脂肪細胞の脂肪分解機構に関与する。腹腔内免疫および脂肪代謝の観点から、大網におけるアデノシンの供給源を検討することは重要である。5'-ヌクレオチダーゼ (5'-Nase) は 5'-アデノシンーリン酸を分解してアデノシンを産生する。本研究では 5'-Nase の酵素組織化学法を用いて、ラット大網における 5'-Nase 活性の局在を検討した。

【方 法】

5'-Nase の酵素組織化学法には、鉛法反応液とセリウム反応液を用いた。鉛法反応液には、基質として 5'-アデノシンーリン酸が、補足剤として硝酸鉛が含まれる。5'-Nase の反応産物であるリン酸が硝酸鉛によって補足され、リン酸鉛として沈澱する。標本をさらに硫化アンモニウムで処理し、リン酸鉛を黒褐色の硫化鉛で置換する。セリウム法反応液には、基質として 5'-アデノシンーリン酸が、補足剤として塩化セリウムが含まれ、5'-Nase 反応産物のリン酸がリン酸セリウムとして沈澱する。いずれの反応液にも非特異的アルカリホスファターゼの阻害剤であるレパミゾールを加えた。

ラット大網を 4%パラホルムアルデヒド溶液で固定し、伸展標本を鉛法反応液で染色して光学顕微鏡で観察した。4%パラホルムアルデヒドと 2%グルタルアルデヒドの混液で固定した伸展標本を、セリウム法反応液で染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。さらに超薄切片を作成して透過型電子顕微鏡で観察した。

【結 果】

染色標本を光学顕微鏡で観察すると、大網中央部に見られる比較的太い管腔構造に、強い 5'-Nase 活性が認められた。それらの管腔構造は、嚢状の盲端や弁様のくびれを持っていた。また乳斑および脂肪細胞間隙にも、強い酵素活性が認められた。乳斑を共焦点レーザー顕微鏡で観察すると、5'-Nase 活性を持つリンパ球と思われる小円形細胞が集団を作っていた。また乳斑の周辺部には脂肪細胞を取り巻くように 5'-Nase 活性を認めた。乳斑周辺部を電子顕微鏡で観察すると、内皮細胞の細胞膜表面に 5'-Nase 活性を持つ管腔構造が多数認められた。その管腔構造は、不規則な形の断面を示し、内皮細胞は薄い細胞質を持ち、基底膜の発達が悪かった。また乳斑周辺部には、5'-Nase 活性を細胞膜表面に持つ線維芽細胞が観察された。その線維芽細胞の突起は脂肪細胞や炎症細胞の近傍にまで伸びていた。

【考察と結論】

5'-Nase 活性はリンパ管には著しく高く、血管では非常に低い。そのため 5'-Nase の酵素組織化学を用いて、各種臓器のリンパ管が同定されてきた。しかし、ラット大網における 5'-Nase 活性の分布は報告されていない。本研究はラット大網における 5'-Nase 活性の局在を明らかにした。乳斑

の周辺部に見られ、5'-Nase 活性を持つ内皮細胞によって構成される管腔構造はその形態学的特徴から、毛細リンパ管であると考えられる。また乳斑周辺部には 5'-Nase 活性を細胞膜表面に持つ線維芽細胞も観察され、その線維芽細胞の突起は炎症細胞の近傍にまで伸びていた。乳斑には、5'-Nase 活性を持つリンパ球の集団が見られた。5'-Nase は 5'- アデノシンーリン酸を脱リン酸化しアデノシンを産生する酵素である。アデノシンは、活性型 T リンパ球やナチュラルキラー細胞が腫瘍細胞への接着するのを抑制したり、マクロファージの β -ガラクトシダーゼ分泌を抑えたり、好中球のロイコトリエン合成を抑制することが報告されている。乳斑周辺部の毛細リンパ管内皮細胞、線維芽細胞および乳斑のリンパ球は、5'-Nase の産生するアデノシンを介して、免疫機構に関与することが考えられる。

乳斑周辺部において、5'-Nase を持つ線維芽細胞の突起は脂肪細胞の近くまで伸びていた。脂肪細胞の脂肪分解はアデノシンによって調節されている。乳斑周辺部に見られる 5'-Nase を持つ線維芽細胞は、脂肪代謝機構に関与することが示唆される。

以上のことから、大網に存在する 5'-Nase は生体防御や脂肪代謝に重要な働きをすると考えられる。

論文審査の結果の要旨

大網は脂肪貯蔵の他、腹膜の炎症部位に集結し炎症拡大を抑制する機能をもつ。また腹腔内ガン転移の好発部位でもある。本研究は、脂肪分解あるいは免疫機能の調節に重要な役割を担うアデノシンに着眼し、その産生に関与する 5'-ヌクレオチダーゼの酵素活性についてラット大網における組織化学的な局在を検討したものである。

本酵素活性は大網血管に並行して広範に分布するほか、乳斑が強く染まった。乳斑の染色反応を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、表層では毛細リンパ管と線維芽細胞が、深層ではリンパ球が強い活性を示すことが分かった。染色された乳斑表層を電顕で調べたところ、線維芽細胞の突起が脂肪細胞や炎症細胞の近傍にまで到達していることが明らかとなった。

本研究は、ラット大網における 5'-ヌクレオチダーゼ活性の分布を初めて報告するとともに、大網における本酵素が内臓脂肪代謝や腹腔内免疫系の調節に深く関与する可能性を指摘した点において、「博士（医学）」の授与に値するものと認められた。

なお、最終試験を平成13年2月21日に実施し、合格と認められた。